Ueber Gonokokkenfärbung

mit spezieller Berücksichtigung der klinischen Praxis.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

gesamten Medizin

verfasst und einer

Hohen medizinischen Fakultät

der

Kgl. Bayr. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Friedrich Schmid,
approb. Arzt aus München.

München, 1902.
Kgl. Hof- u. Universitäts-Buchdruckerei von Dr. C. Wolf & Sohn.

Ueber Gonokokkenfärbung

mit spezieller Berücksichtigung der klinischen Praxis.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

gesamten Medizin

verfasst und einer

Hohen medizinischen Fakultät

der

Kgl. Bayr. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Friedrich Schmid,
approb. Arzt aus München.

ACAD.
LUDOVIC.
BIBL.

München, 1902.
Kgl. Hof- u. Universitäts-Buchdruckerei von Dr. C. Wolf & Sohn.

Gedruckt mit Genehmigung der medizin. Fakultät
der Universität München.

Referent: Herr Geheimrat Prof. von Winckel.

Die Diagnose Gonorrhoe bei irgend einem serösen oder serös-eitrigen Schleimhautkatarrhe mit Sicherheit zu stellen, ist für Arzt und Patienten von grösster Wichtigkeit. Eine einfache, nicht gonorrhoische Urethritis bei einem Manne, eine Vulvitis bei einem Kinde oder einer Frau, eine nicht infektiöse Conjunctivitis bei einem kleinen Kinde sind bezüglich ihrer Prognose leicht zu nehmende Erkrankungen, wenn mit Sicherheit der Beweis geliefert wird, dass das Sekret keine pathogenen Bakterien enthält.

Als solche kommen eine Anzahl hochvirulenter Mikroorganismen in Betracht, wie Diphtheriebazillen, Streptokokken und Staphylokokkenarten u. a. Die mikroskopische Untersuchung oder ein einfaches kulturelles Verfahren belehrt uns innerhalb weniger Minuten oder längstens 24 Stunden über ihr Vorhandensein und zeigt uns den Weg, den die Therapie einzuschlagen hat. Gerade auf den Schleimhäuten aber lokalisiert sich auch der Neisser'sche Gonokokkus, dessen Diagnose uns oft sehr erschwert ist, einerseits dadurch, dass derselbe ein typisches, mit keinem anderen Diplokokken zu verwechselndes Aussehen nicht bietet, andererseits in den meisten Fällen mit einer Unzahl von anderen oft sehr unschuldigen, manchmal aber auch höchst pathogenen Mikroorganismen vergesellschaftet ist.

Der Gonokokkus Neisser gehört zwar nicht zu denjenigen Mikroorganismen, die durch ihre hohe Virulenz zu gefürchteten akuten Erkrankungen führen; zwar sind in den letzten Jahren eine grössere Anzahl von Fällen berichtet, in

denen es zu einer vollkommenen Durchseuchung des befallenen Körpers kam mit nachfolgendem letalen Ausgang unter den Anzeichen der Pyämie. Doch gehören solche Ereignisse immerhin noch zu den seltenen Vorkommnissen und sind darauf zurückzuführen, dass das betreffende Individuum durch eine besonders heftige Infektion mit Gonokokken geradezu überschwemmt wurde, oder gegen die Infektion eine zu geringe Widerstandsfähigkeit besass oder dieselbe vom Patienten entweder lange nicht gekannt oder häufiger zu lange verheimlicht oder durch Selbstbehandlung verschlimmert wurde.

Im allgemeinen bleibt die Erkrankung auf die befallene Schleimhaut und das Nachbargebiet beschränkt. Die akuten Erscheinungen sind verhältnismässig geringe, die ganz ohne Temperaturerhöhung oder nur mit ziemlich niedrigem Fieber einhergehen und mit einer leider oft nur scheinbaren Heilung enden. Der eitrige Ausfluss wird spärlich, serös und hört schliesslich ganz auf. Der Patient, erfreut über den schnellen, günstigen Verlauf der Erkrankung, tritt aus der Behandlung — die Folgezeit lehrt uns, in den meisten Fällen ungeheilt.

An Stelle der akuten Gonorrhoe ist eine fast latente chronische Erkrankung getreten.

Die Gefahr einer solchen chronischen Erkrankung für den Patienten wie für seine Mitmenschen ist es, die den Arzt zu einer genauen Differentialdiagnose zwingt.

Die gewöhnliche Lokalisation des Gonokokkus im Genitaltraktus bringt die Gefahr der Verbreitung ins Unendliche mit sich; denn der chronisch Erkrankte beherbergt in den Falten der befallenen Schleimhaut noch Jahrzehnte über den akuten Anfall hinaus lebensfähige virulente Keime, die auf die Schleimhaut eines anderen gebracht, dort sich vermehren und eine akute Gonorrhoe zur Folge haben. Der scheinbar

gesunde Mann infiziert seine Frau, die eine akute Gonorrhoe acquiriert. Während der Schwangerschaft wird dieselbe chronisch; das Kind kommt sub partu in Berührung mit dem gonokokkenhaltigen Sekret, und wenn keine Vorkehrungen getroffen werden, ist eine gonorrhoische Conjunctivitis die Folge. Oft gelingt es nicht, das Augenlicht dem armen Kinde zu erhalten. Die meisten früh Erblindeten haben ihr Sehvermögen hiedurch eingebüsst.

Gelingt es, die Infektion des Conjunctivalsackes zu kupieren, so ist oft das Resultat eine Hornhauttrübung, die das Sehen sehr hindert. Welchen Folgen eine gonorrhoisch erkrankte Frau ausgesetzt ist, schildert Sänger mit beredten Worten, indem er schreibt: Die Gonorrhoe ist mit ihren Folgezuständen für die Frauen im allgemeinen gefährlicher und verderblicher als die Syphilis. Vielen wird dies als eine Übertreibung vorkommen; man muss aber bedenken, dass die Gonorrhoe bei der Frau direkt zum Tode führen kann. Es kann sich der virulente Prozess auf die Tuben ausdehnen und hier zu der Entstehung von pyosalpingitischen Fällen Veranlassung geben, welche dann durch Ruptur eine tödliche Peritonitis erzeugen. Abgesehen aber von diesen Ausgängen, die übrigens glücklicherweise ziemlich selten sind, weil, wie es scheint, das Peritoneum gewöhnlich durch Auflagerungen und Abkapselungen sich gegen den Eiteraustritt zu schützen vermag, gibt es zahlreiche Krankheitszustände, welche durch die Gonorrhoe bedingt sind. Alltäglich stellt man Diagnosen auf Exsudate, Perimetritis, fixierte Verlagerung des Uterus, man konstatiert das Vorhandensein von Cervix-Katarrhen, von Erosionen, von Sterilität; würde man die Ätiologie derartiger Leiden genau verfolgen können, dann würde man gewiss finden, dass unverhältnismässig oft die gonorrhoische Infektion an allem die Schuld trägt.

Pflicht des Arztes ist es daher, genau jede akute und

noch mehr jede chronische Erkrankung der Genitalschleimhaut so lange als gonorrhoisch anzusehen, bis sich durch genaue mikroskopische Untersuchung des erhaltenen Sekrets eine bestimmte Diagnose verschaffen lässt.

Leider besitzt nun der Neisser'sche Gonokokkus verschiedene Eigenschaften, die gerade die mikroskopische Untersuchung und seine Reinkultur sehr erschweren.

Die Reinzüchtung ist für den praktischen Arzt an und für sich unmöglich, denn der Gonokokkus erfordert ein eigenes Verfahren, das nur in für bakteriologische Untersuchungsmethoden eingerichteten Anstalten möglich ist. Im akuten Falle ist die Diagnose auf Grund des mikroskopischen Bildes leicht zu stellen. Wenn im Eiter eine grosse Anzahl von Gonokokken enthalten sind, dann finden wir einen fast typischen Befund. Zahlreiche Leucocyten und Eiterkörperchen, von denen die meisten mit den semmelförmigen Kokken angestopft sind, Epithelien ebenfalls mit aufliegenden einzelnen oder häufchenweise gruppierten Gonokokken stellen sich im Gesichtsfelde ein, und zwischen allen den Zellen gewahren wir noch vereinzelte oder in Gruppen gelagerte Diplokokken der Gonorrhoe. Andere den Gonokokken mehr oder minder ähnliche Bakterien finden sich nicht.

Ganz anders liegen die Verhältnisse im Präparate einer chronischen Gonorhoe, wo nur spärliche Gonokokken enthalten sind, daneben aber verschiedenerlei Formen anderer Mikroorganismen.

Unter diesen sind Diplokokken enthalten, welche dem Gonokokkus aufs Haar gleichen und sich kaum durch geringere Grösse oder geringeren Zwischenraum zwischen je zwei einzelnen Kokken unterscheidet.

Auch die intra- oder extracelluläre Lagerung der Kokken ist hier kein sicher unterscheidendes Merkmal, da die La-

gerung innerhalb der Leucocyten oder auf Epithelien auch anderen Diplokokken eigen ist.

Als solche Kokkenformen, die zur Verwechslung mit dem Gonokokkus führen können, kommen vor allem in Betracht der Mikrokokkus subflavus, ein sich nach Gram nicht entfärbender Organismus von der Grösse und Gestalt des Gonokokkus, ferner der Mikrokokkus albicans amplus und Mikrokokkus tetragenus, ersterer etwas grösser als der Gonokokkus, der letztere meist in Viererhäufchen gruppiert, beide nach Gram nicht entfärbbar; morphologisch identisch mit dem Erreger der Gonorhoe ist der Diplokokkus albicans tardissimus.

Doch sind alle diese Diplokokkenformen verhältnismässig selten unter der gemischten Bakterienflora zu finden. In Fällen jedoch, wo es sich um exakte, bakteriologische Untersuchung einer Diplokokkenart in einem gonorrhoeverdächtigen Eiter handelt, kann nur die für den Praktiker unausführbare Züchtung in Betracht kommen, die eben in einem geeigneten Laboratorium vorgenommen werden muss. Für den praktischen Arzt handelt es sich jedoch nie um eine biologische Untersuchung einer Bakterienart, sondern darum, in einem Sekrete mit möglichster Schnelligkeit durch ein einfaches, nie versagendes Verfahren ein Präparat zu gewinnen, das auch dem im bakteriologischen Mikroskopieren Ungeübten eine Diagnose gestattet.

Seit der Entdeckung des Gonokokkus und seines Verhaltens zu gewissen Farbstoffen durch Neisser im Jahre 1879 wurden die verschiedensten Methoden angewandt, die namentlich in jüngster Zeit durch eine Anzahl neuer Färbungsmethoden mit ganz neuen Anilinfarben bereichert wurden.

Fast allen den modernen Färbungsmethoden haftet der Nachteil an, dass sie zu kompliziert sind und bei nicht ganz

exakter Einhaltung der von dem Entdecker angegebenen Vorschriften in Bezug auf Konzentration des Farbstoffes, Dauer der verschiedenen Manipulationen u. s. w. ein ungenügendes Resultat geben.

Für den Praktiker ist ein Verfahren erforderlich, das, wie schon oben gesagt, schnell und einfach ein Resultat gibt, das schon ohne Doppel- und Kontrastfärbungen sofort und ohne die Gefahr der Überfärbung die Diagnose erlaubt.

Das erste im Jahre 1879 von Neisser angegebene Verfahren der Gonokokkenfärbung bestand darin, dass Neisser das in möglichst dünner Schicht aufgetragene Sekret einer Temperatur von 120—125° C. längere Zeit aussetzte, dasselbe in einer verdünnten wässerigen Methylenblaulösung 15 Minuten bis 24 Stunden färbte und schliesslich in Wasser abspülte.

Eschbaum lässt das lufttrockene Präparat, das zuvor dreimal durch die Flamme gezogen wurde, 15—20 Minuten auf einer $^1/_4$%igen Gentianaviolettlösung schwimmen, spült eine Viertelminute in absolutem Alkohol ab und trocknet zwischen Fliesspapier. Die sämtlichen Kokken erscheinen dunkelviolett, die Kerne und Zelleiber hellviolett.

Steinschneider benützt eine 1%ige alkoholische Saffraninlösung, die er mit 200 Teilen destilliertem Wasser vermischt. Einige Tropfen dieser Flüssigkeit werden auf das erwärmte Präparat gebracht, dasselbe mit Wasser abgespült und getrocknet. Die Bakterien, Zellkerne und Plasma geben dann eine Abstufung von tiefdunkelrot ins blassrosa.

Welander benützt eine 1—2%ige wässerige Fuchsinlösung. Die Bakterien färben sich schwarzbraun, Kerne blaurot, Plasma rot. Mit konzentrierter Fuchsinlösung eine halbe Minute zu färben, gab Bumm an. Ebenso eine Lösung von Methylenblau in Toluidin mit nachfolgender Entfärbung in Alkohol absolutus.

Schon komplizierter, wie die bisherigen Methoden, ist das Verfahren von Finger.

Das Deckglaspräparat soll man mit der getrockneten Präparatseite nach unten auf folgender Lösung schwimmen lassen:

Konzentriert alkoholische Methylenblaulösung wird in ein Uhrschälchen mit Wasser oder stark verdünnter Kali causticum-Lösung (1 : 10000) solange zugetropft, bis die Flüssigkeit einen tiefblauen Ton hat.

Darauf soll man das Deckgläschen zwei Minuten schwimmen lassen, dann abspülen mit Wasser, abtrocknen, Canadabalsam aufkleben.

Als einfache Farbenmethoden kommen noch in Betracht Karbolfuchsin, Karbolmethylenblau, Methylviolett.

Wie wenig schon diese bisweilen komplizierten Einzelfärbungen befriedigten, lässt sich aus der langen Reihe von Doppelfärbungen ersehen, die angegeben wurden, und die alle auf einer Kontrastfärbung beruhen, bei der die Bakterien und Kerne blau, das Zellplasma und der Schleim rosa oder gelb gefärbt erscheinen soll.

So gibt Hasse an:

Das lufttrockene Präparat soll dreimal durch die Flamme gezogen werden, dann soll man es 15—20 Minuten lange auf einer konzentrierten Methylenblaulösung in 5%igem Karbolwasser schwimmen lassen, in Wasser abspülen, drei Sekunden lange in einer Essigsäurelösung entfärben, die aus zehn Tropfen Acid. acet. glaciale und $^1/_4$ l Wasser besteht, dann wieder im Wasserstrahl abwaschen, mit einer 1%igen wässerigen Eosinlösung nachfärben und zwischen Fliesspapier trocknen.

Schütz ändert ein wenig die Zusammensetzung des Essigsäurewassers, indem er nimmt:

Acid. acet. dil. gtt. V.
aquae. dest. ad 20,0,

spült ab und färbt mit 1 %iger alkoholischer Saffraninlösung nach, solange, bis die Saffraninfärbung eben auf einer untergehaltenen Porzellanplatte kenntlich wird.

Nach der Behandlung mit der verdünnten Essigsäure soll alles im Präparat entfärbt sein, bis auf die Gonokokken, welche deutlich blau bleiben.

Weiss benützt eine wässerige Methylviolettlösung, entfärbt mit einer 0,1- bis 1%igen Osmiumsäure und färbt mit Eosinlösung nach.

Eine vielzusammengesetzte Färbung gibt nochmals Hasse an:

Das Deckglaspräparat wird einmal durch die Flamme gezogen, dann eine halbe Minute in gesättigter 0,5%iger Kalium hypermanganikum Methylenblaulösung (? wörtlich!) gefärbt.

In Wasser abgewaschen, in verdünnter Essigsäure entfärbt, solange, bis die blaue Farbe verschwindet und violett erscheint, in Wasser entsäuert, dann in vorzüglichster Pikrocarminlösung, der man noch Pikrinsäure zusetzen kann, solange gefärbt, bis auf weissem Grunde eine Rosafärbung sichtbar wird (5—8 Minuten).

Schliesslich in Wasser abgespült, dann getrocknet und in Glycerin oder Canadabalsam untersucht.

Die Kokken erscheinen blau, die Zellkerne rot, das Plasma lachsfarben, die Epithelien gelblich.

Auch Neisser gibt zwei Verfahren der Methylenblau-Eosin-Doppelfärbungen an:

Entweder färbt man das Präparat einige Minuten in konzentrierter alkoholischer Eosinlösung unter Erwärmen, saugt dann das Eosin mit Fliesspapier ab, bringt eine Viertel-

minute konzentrierte alkoholische Methylenblaulösung auf dasselbe und spült schliesslich mit Wasser gut ab.

Oder man erwärmt das Präparat eine Minute mit Löffler'schem Methylenblau, spült dann mit Wasser ab, färbt mit einer 1%igen wässerigen Eosinlösung nach und spült abermals mit Wasser ab.

In beiden Fällen sind die Bakterien und Kerne blau, das Zellplasma und der Schleim rosa tingiert. Bei alten Gonorrhoen mit wenig Gonokokken untersuche man ohne Deckglas mit direkt auf das Präparat getropftem Cedernöl.

Die wichtigste und bekannteste aller Kontrastfärbungen ist die Gram'sche Methode mit ihren Modifikationen nach Günther, Ehrlich und Unna.

Zur Färbung nach Gram soll das Objektglaspräparat 25—30 Minuten in konzentrierter Anilinwassergentianaviolettlösung belassen werden, dann mit Wasser durchgespült, fünf Minuten einer Jodjodkaliumlösung ausgesetzt und sodann so lange im Alkohol getaucht werden, bis das Präparat entfärbt ist und die vom Glase abtropfende Flüssigkeit keine Färbung mehr zeigt, sodann mit Wasser abspülen und nachfärben. Zum Nachfärben wird empfohlen: verdünntes Bismarckbraun, Löffler'sches Methylenblau, Karbolfuchsin.

Durch dieses Verfahren sollen alle nach Gram färbbaren Bakterien im Präparat die violette Farbe behalten, die Gonokokken jedoch entfärbt werden und sich allein mit der sekundären Farbe entsprechend tingieren.

Günther hat folgende Modifikationen der Gram'schen Methode geschaffen:

Das Präparat wird mit Pikrocarmin vorgefärbt, mit Wasser abgespült und dann getrocknet, dann

1. mit Ehrlichs Anilinwassergentianaviolettlösung, welche mindestens 24 Stunden alt sein muss, circa eine halbe Minute lang gefärbt,

2. die Farblösung wird abgegossen und Jodjodkaliumlösung circa eine Minute lang auf dem Präparate hin- und herfliessen lassen,
3. die Jodlösung wird abgegossen und das Präparat unter Bewegen eine bis mehrere Minuten im absoluten Alkohol abgespült,
4. das Präparat wird unter dem Wasserstrahl gewaschen, abgeblasen und getrocknet.

Unna nimmt statt Jodjodkaliumlösung eine Jodkaliumlösung mit Wasserstoffsuperoxyd.

Diese Doppelfärbung nach Gram, die ein absolut sicheres Kennzeichen der Gonokokken in der Entfärbung derselben liefern soll, hat zu einer Reihe von Streitfragen Anlass gegeben, die sich alle um die zur Entfärbung notwendigen Zeit der Alkoholbehandlung drehen.

So behauptet Hijmans van den Bergh, dass intracellulär gelegene Gonokokken stets die Gramfärbung behalten, wenn die Ausstrichpräparate von gonorrhoischem Eiter nicht länger als 30 Minuten in absolutem Alkohol entfärbt werden, vorausgesetzt, dass nicht allzu verdünnte Farbstofflösung dazu benützt wird. Sicher entfärbt sind die Gonokokken erst nach $2^1/_2$ Minuten. Nach vier Minuten beginnen auch die anderen pyogenen Kokken, sich zu entfärben.

Dem entgegen behaupten Ahmann und Imdeel, dass die Gonokokkenentfärbung nach Gram nach zehn Sekunden eintritt, wenn das Präparat dünn genug aufgestrichen ist.

Nach Lehmann und Neumann, der bei der Darstellung der Gonokokken einen grossen Wert auf ihr Verhalten zur Gram'schen Methode legt, tritt ein Behalten der violetten Farbe nur dann ein, wenn nicht ganz genau nach Vorschrift verfahren wird.

Um ein deutliches Zellbild zu gewinnen, empfiehlt auch Lehmann die Nachfärbung mit einer schwachen Bismarckbraunlösung.

Nach alledem halte ich die Gram'sche Methode für die Verwendung in der Praxis für sehr unzuverlässig.

Da es sich hierin häufig darum handelt, noch in Anwesenheit des Patienten in ein paar Sekunden eine Diagnose zu stellen, ist es nicht vorteilhaft, ein Verfahren zu wählen, das in einem Zeitraum von kürzestens drei Minuten bis längstens 35 Minuten zu einem noch dazu unsicheren Resultat führt. Ein Verfahren, das übrigens für den ungeübten Mikroskopiker viel zu kompliziert ist.

Ein grosser Nachteil liegt ferner darin, dass es, selbst wenn das Präparat, das „ganz genau nach Vorschrift" gefertigt wurde, geglückt ist, sich einerseits eben im Präparate auch noch andere nach Gram sich entfärbende Kokken vorfinden können, andererseits bei dem erreichten Resultate es oft nicht möglich ist, zu unterscheiden, welche Kokken haben den dunkelvioletten Ton des Gentianavioletts erhalten, und welche den schwarzblauen Ton des Methylenblau oder den schwarzbraunen Ton des Bismarckbraun oder Karbolfuchsin neu angenommen.

Zahlreiche Präparate ein und desselben Eiters (chronische Gonorrhoe), die vergleichsweise mit den verschiedenen Modifikationen der Gram'schen Methode gefärbt wurden, gaben mir alle ein für den Praktiker unzuverlässiges Resultat. In keinem Falle, selbst wenn das vor der Entfärbung auf Gonokokken untersuchte Präparat ein positives Resultat gab, gelang es mir, aus der Entfärbung und Kontrastfärbung zu entscheiden, ob und welche Kokken bei dem sehr gemischten Bakteriengehalt des Präparats die ursprüngliche Farbe behielten oder entfärbt wurden. Das Resultat war fast immer, wie oben erwähnt, eine sehr dunkle, fast schwarze Bakterien-

färbung. Bei zu kurzer Entfärbung blieben die verschiedensten Kokken, ja Zellkerne violett, in anderen Fällen war eben alles von dem Kontrastfarbstoff ergriffen. Dass aus solch zweifelhaften Resultaten der Praktiker, der meistens nur ein einziges Präparat färbt, sofort eine entscheidende Diagnose stellt, erscheint mir unmöglich. Für diese Fälle eignet sich die Gram'sche Methode nicht, die ja für eingehende bakteriologische Untersuchung in Verbindung mit Kulturverfahren so gut wie unentbehrlich ist.

Allen den bisher erwähnten Färbungsmethoden, den einfachen sowohl wie den Doppelfärbungen, haften in Bezug auf Ausführung oder Resultat Fehler an, die ihren Wert für die Praxis in vielen Fällen ganz ausser Frage stellen oder wenigstens sehr erniedrigen.

Die alte Neisser'sche Methode, die eine längere Erhitzung bei einer bestimmten Temperatur (150° C.) erfordert und eine sehr lange Zeitdauer (15 Minuten bis 24 Stunden) verlangt, ist längst durch die einfache Färbung mit Löffler-schem Methylenblau ersetzt.

Diese Methode, die ohne Komplikationen in wenigen Sekunden ein brauchbares Resultat liefern kann, ist freilich von den älteren Methoden die beste. Die sämtlichen Kokken im Präparate erscheinen schwarzblau, die Kerne dunkelblau, alles übrige hellblau. Dies ist verschieden je nach der Beschaffenheit des Farbstoffes und je nach der Dauer der Färbung, und variiert von der völligen Farblosigkeit des Plasmas und einem fast noch hellblauen Tone der Bakterien bis zu einem allgemeinen dunklen Blau des ganzen Gesichtsfeldes. Letzteres tritt namentlich dann ein, wenn das Präparat ungleichmässig gestrichen ist, an den dicksten Stellen. Ein Nachteil der Färbung besteht darin, dass es sehr undeutliche Kern- und Zellgrenzen liefert, die namentlich bei

Schleimbeimengung zum Sekrete dem ganzen Bilde ein trübes, verschleiertes Aussehen geben.

In solchen Fällen, die gerade die häufigsten sind, ist es natürlich nicht möglich, eine schnelle und genaue Diagnose zu stellen. Es ist einerseits schwer möglich, die Gonokokken ihrer Gestalt nach zu erkennen und sie von anderen Diplokokken oder Staphylokokken zu trennen, noch auch ihre Lage in oder zwischen den Zellen mit Sicherheit festzustellen. Die Annahme, dass Kokkenhaufen, die um einen Kern gruppiert sich finden, intracellulär liegen, ist falsch, da ja Kerne mit sehr geringer oder excentrischer Plasmahülle vorkommen. Diese Lagerung zu diagnostizieren ist nur möglich bei exakter Begrenzung des einzelnen Zelleibs.

Das konzentriert alkoholische Methylenblau ist für sich allein ein Stoff von sehr geringer Färbekraft, ebenso auch das karbolisierte Methylenblau. Allerdings ist eine Überfärbung so gut wie ausgeschlossen; dennoch eignet es sich wegen des schwachen, undeutlichen Resultates nicht zu Einzelfärbungen. Dasselbe gilt vom Toluidin-Methylenblau.

Die violetten Farbstoffe Methylviolett und Gentianaviolett in alkoholischer oder wässeriger Lösung geben wenigstens in Bezug auf die Bakterien, deren Leiber scharf begrenzt erscheinen, ein verhältnismässig günstiges Resultat. Zellkerne und Plasma jedoch erscheinen unscharf, und vor allem färben die violetten Farbstoffe den Schleim und alle Verunreinigungen auf dem Objektträger, die sich eben oft nicht vermeiden lassen, in so diffuser Weise, dass das gesamte Bild durch einen violetten Untergrund verschleiert erscheint. Violett lässt sich auch wegen seiner geringen Kontrastwirkung zu anderen gebräuchlichen Farben — rot oder blau — nicht zu Doppelfärbungen verwenden. Im Gesamtbilde aber ermüdet die violette Farbe das Auge zu sehr und eignet sich daher zu mikroskopischen Färbungen gar nicht

Ähnliche Resultate liefern die Färbungen, die aus der Reihe der roten Farben genommen sind.

Vor allem das Fuchsin in seinen zwei Hauptarten, wie sie gewöhnlich gebraucht werden, das Karbolfuchsin (Ziehl) und die alkoholische oder wässerige 1%ig bis konzentrierte Fuchsinlösung.

Das Karbolfuchsin hat vor allem den Nachteil der geringen Haltbarkeit. Es zersetzt sich, nimmt einen schwarzbraunen Ton an und lässt einen Niederschlag ausfallen, wodurch es völlig unbrauchbar wird.

In stark verdünnter Lösung oder auch, wenn es schon durch Alter gelitten hat, liefert es Präparate, die so schwach gefärbt sind, dass eine diffuse Rosafärbung absolut ohne jede Kern- oder Zellgrenzen entsteht. Man erhält ein Bild, in dem Eiterkörperchen aussehen wie rosagefärbte Blutkörperchen oder Chylus. Von Abgrenzung keine Spur. In stärkeren Lösungen oder ganz frisch besitzt es eben den sämtlichen Fuchsinen eigenen Nachteil der Überfärbung.

Das erhaltene Bild hat einen violettroten oder bordeauxroten, stark glänzenden Grundton, auf welchem sich die etwas dunkleren oder braunen Kerne und die fast schwarzen Kokken und ebensolchen Staubfäserchen, die in jedem Präparat vorkommen und vom Trocknen oder aus der Luft oder aus der Farbe selbst stammen, gar nicht abheben. Das Auge ermüdet beim Durchsuchen einer so stark gefärbten, glänzenden Fläche sehr bald, ein genaues Fixieren und Erkennen eines zu untersuchenden Punktes ist unmöglich.

Die konzentriert alkoholische oder wässerige Fuchsinlösung überfärbt in noch stärkerem Grade, so dass die erhaltenen Präparate völlig unbrauchbar werden. Erst in einer Verdünnung von $^1/_2$‰ oder 1‰ erscheinen brauchbare Farbtöne, in denen die Bakterien sich scharf von den helleren Kernen und den violett roten Zelleibern abheben, und ist

diese sehr verdünnte Farbstofflösung mit ihrem klaren Resultate sehr zu empfehlen.

Ein anderer, dem Fuchsin in seiner Farbenwirkung nahe stehender Farbstoff ist das Saffranin in stark verdünnter alkoholischer Lösung (1 %ig alkoholische Saffraninlösung 100,0 + 200 aqua destillata). Dieselbe liefert kein deutliches, sondern ein verschleiertes Bild, das ebenso, wie die konzentrierteren Fuchsinlösungen keine Übersicht über die im Gesichtsfeld liegenden Gebilde gestattet.

Von den in den älteren Verfahren erwähnten roten Farbstoffen ist noch das Eosin zu nennen, das nur in ganz dünnen Lösungen verwendbar ist. Dasselbe färbt speziell Plasma und Schleim und eignet sich daher nur zu Doppelfärbungen, als Einzelfärbung ist es in der brauchbaren Verdünnung zu schwach, in stärkeren Lösungen völlig unklar, indem es gar keine Grenzen zwischen Zelleib, Kern etc. liefert. Von den Doppelfärbungen sind besonders die Methoden zu erwähnen, die als Grundlage das Schleim und Plasma färbende Eosin und als Kontrastfarbe das Zellkerne und Kokken färbende Methylenblau benützen.

Alle Methoden beruhen auf Vorfärbung des Präparats, Entfärbung desselben bis zu einem bestimmten Punkte und Nachfärbung mit der Kontrastfarbe.

In dieser, genaue Zeiteinhaltung erfordernden Technik liegt ihr grösster Nachteil.

Je nach der Art der Farbe, die erst durch Ausprobieren ihrer günstigsten Färbedauer gewonnen werden kann, reduziert oder verlängert sich die Dauer der drei einzelnen Perioden der Anfertigung eines Kontrastpräparates.

In einem wirklich gelungenen Präparate sollen dann Zellkerne und Bakterien scharf begrenzt blau bis schwarz erscheinen, alles übrige leicht rosa, und soll vor allem auch der plasmatische Zelleib scharf begrenzt sein.

Dieses theoretische Resultat erreicht man in den allerwenigsten Fällen. Einmal wirkt die zu Entfärbung benützte Flüssigkeit in der vom Erstverfertiger angegebenen Zeit zu wenig, das Resultat ist ein unscharfes, violettes Bild, das andere Mal überwiegt das Rot, oder es färbt das Eosin die blaugebliebenen Kerne zum zweiten Male, so dass sie violett erscheinen und sich wenig von dem rotgefärbten Untergrund abgeben, oder das Bild erscheint diffus rosa ohne Abgrenzung der Gebilde.

Obwohl diese Kontrastbilder im Falle des Gelingens wohl das beste und schönste Resultat geben, das an Schärfe und Klarheit nichts zu wünschen übrig lässt, eignet sich das Verfahren für den Praktiker verhältnismässig wenig, da es eine zu genaue Ausprobierung der Farbe und Zeiteinteilung erfordert, und auch dem Geübtesten nicht immer das erste Präparat, das meistens auch das einzige ist, gelingt.

Um die einzelnen Verfahren der Methylenblau-Eosinfärbung zu besprechen, so ist die von Hasse vorgeschlagene Behandlung mit Karbolmethylenblau die ungünstigste. Die Entfärbung gelingt mit der Essigsäurelösung in angegebener Konzentration (10 gtt. : 250 aqua) in drei Sekunden niemals. Meistens bleiben einzelne Partien des Präparates, Schleim oder Plasma, blau gefärbt oder die Kontrastfärbung mit Eosin wird eine vollkommene, ohne jede Abgrenzung der einzelnen Gebilde.

Auch das von Schütz verbesserte Verfahren, der eine stärkere Essigsäure nimmt und mit Saffranin nachfärbt, gibt ein unsicheres Resultat. Überdies eignen sich rote Farbstoffe, die einen Stich ins Violette haben, wie das Saffranin und auch das Fuchsin, wenig oder gar nicht zur Kontrastierung mit Blau, da jeder Schimmer violett, der bei einer geringen Mischung der verwendeten Farben entsteht, vermieden werden soll.

Das zweite, übrigens sehr undeutlich angegebene Verfahren von Hasse, betreffend eine Kontrastwirkung von Pikrocarmin und Methylenblau, ist für den Praktiker zu kompliziert.

Eines der zuverlässigsten Verfahren dieser Art ist die zweite Neisser'sche Methode der Vorfärbung mit heissem Löffler'schen Methylenblau und einfachem Abspülen mit Wasser ohne Essigsäure-Entfärbung mit nachfolgender Eosinnachfärbung. In den Fällen, in denen weder das Methylenblau noch das Eosin überfärbt, liefert diese Methode vortreffliche und sehr empfehlenswerte Resultate.

In den letzten Jahren wurden wohl infolge der bedeutenden Fortschritte in der Herstellung neuer Anilinfarbstoffe eine grosse Anzahl von neuen Methoden der Gonokokkenfärbung angegeben, die ich, soweit es mir möglich war, an einer grossen Reihe von Präparaten vergleichsweise mit älteren Verfahren durchführte.

Für die praktische Verwendung wohl von vornherein auszuschliessen sind einige Farbstoffangaben, die vereinzelt mit ganz seltenen Farben arbeiten. So hat Homberger (Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde) folgendes Verfahren angegeben. Er benützte zu seiner Färbung eine Lösung von Kresylechtviolett (1 : 10000 aqua). Das Resultat soll eine violette Färbung der Gonokokken neben einer Blaufärbung der Zellkerne ergeben.

Mir ist es nicht möglich gewesen, die Färbung nachzuprüfen, da das Kresylechtviolett vollständig aus dem Handel verschwunden ist und nicht mehr hergestellt wird. Eine andere, ebenfalls seltene Farbstofflösung empfiehlt Schaeffer. Er färbt das dünn aufgestrichene und gut fixierte Präparat mit einer verdünnten Karbolfuchsinlösung, spült ab und färbt mit einer hellblauen Methylenblaudiaminmethylenblaulösung nach, so lange, bis neben dem rötlichen Farbenton sich eben

eine deutliche blaue Farbennuance bemerkbar macht, was ungefähr 40 Sekunden dauert. Hierauf wird abgespült und getrocknet. Das Protoplasma erscheint rosa, Kerne hellblau, Gonokokken schwarz.

Dieses Verfahren erfordert einerseits einen Farbstoff, der schwer zu beschaffen ist, andererseits eine sehr genaue Präzisierung des Verfahrens, zwei Nachteile, die die Verwendbarkeit des Verfahrens in praxi unmöglich machen.

Einer der besten modernen Farbstoffe, der von verschiedener Seite empfohlen wurde, ist das Neutralrot (Ehrlich oder Grübler); dasselbe wurde von Herz, Uhma und Plato angegeben. Uhma empfiehlt eine $^1/_2$- bis 1%ige alkoholische Neutralrotlösung und gibt dabei ein Verfahren an, das in wenig Sekunden lebende Gonokokken sicher färben soll.

Er verfährt zu seiner „Schnellfärbung“ folgendermassen: Die Objektträger werden mit einer alkoholischen $^1/_2$- bis 1%igen Neutralrotlösung benetzt und getrocknet. Hierauf legt man ein Deckglas, mit einem kleinen Tröpfchen Eiter benetzt, auf den Objektträger, drückt an und untersucht sofort unter Ölimmersion. Die ersten morphologischen Elemente, die gefärbt erscheinen, sind die Gonokokken.

Auch Plato gibt ein ähnliches, zur Färbung lebender Gonokokken bestimmtes Verfahren an. Er vermischt 1 cbm einer kaltgesättigten wässerigen Neutralrotlösung mit 100 cbm physiologischer Kochsalzlösung und untersucht im hängenden Tropfen. Man sieht dann einen Teil der intracellulären Gonokokken tiefrot gefärbt, in vielen Fällen sogar ohne Färbung irgend welcher Bestandteile der Zellen. Nicht alle intracelluläre Gonokokken sind gefärbt, sondern dicht neben den gefärbten sieht man auch ungefärbte. Regt man die Leucocyten durch langsames Erwärmen zu amöboiden Bewegungen, so entfärben sich die erstgefärbten intracellulären

Kokken langsam wieder. Extracelluläre Kokken werden nicht gefärbt. Teilungen und Einzelbewegung der Gonokokken wurden nicht beobachtet. Weitere Angaben beziehen sich nur auf die Biologie der Gonokokken.

Die beiden angegebenen Methoden, die übrigens das bezeichnete Resultat keineswegs mit Sicherheit, sondern nur in einzelnen Fällen ergaben, sind für die praktische Untersuchung, wo es sich nicht um biologische Studien, sondern um den diagnostischen Nachweis der Gonokokken neben den klinischen Bildern handelt, nicht verwertbar. Anders dagegen verhält es sich mit den Angaben von Herz und auch von Plato, der eine ½- bis 1%ige wässerige Neutralrotlösung zur Färbung fixierter Präparate anwandte. Die Präparate werden gut fixiert und eine halbe bis eine bis zwei Minuten mit der Farbe benetzt, in Wasser abgespült und rasch getrocknet; am besten zwischen Fliesspapier mit nachfolgendem Durchziehen durch die Flamme. Von den zahlreichen Versuchen, die ich mit Neutralrotlösung von verschiedenem Prozentgehalt anstellte, erscheint mir diese Methode von Herz und Plato wohl am besten, wenn ihr auch noch manche Nachteile anhängen. Einschalten will ich hier, dass ich mit Neutralrot Grübler bessere Resultate erzielte als mit gleich stark konzentriertem Ehrlich'schem Neutralrot. Die alkoholische Lösung, die vor der wässerigen den Vorzug der unbegrenzten Haltbarkeit hat, kann ich weniger empfehlen. Ihre Färbekraft ist bei kurzer Färbungsdauer eine geringe. Es erscheint das Bild dann undeutlich und verschleiert.

Anders dagegen ist die Färbung mit einer ½- bis 1%igen wässrigen Neutralrotlösung. Höhere oder niedere Prozentgehalte sind nicht brauchbar. Die Vorzüge der Färbung bestehen in einer ungemein scharfen Differenzierung der einzelnen Gebilde. Das Zellplasma und der Schleim erscheinen

nach einer Färbung von einer Minute Dauer rosa (oder bräunlichrot bei älterer Lösung) gefärbt, der Zellkern bordeauxrot in grosser Schärfe, die seine Struktur deutlich erkennen lässt, die Gonokokken leuchtend rot. Zwar färben sich alle im Präparate enthaltenen Bakterien rot, doch zeichnet sich die Färbung vor der gebräuchlichen Methylenblaufärbung durch scharfe Abgrenzung aus gegenüber der etwas massigeren und plumperen Blaufärbung. Die Gonokokken heben sich sehr scharf von den übrigen Bakterien ab, wie ich an einer grossen Anzahl von Präparaten akuter und chronischer Gonorrhoe konstatieren konnte.

Plato schreibt über die Resultate der Neutralrotfärbung: „Wir besitzen in dem Neutralrot ein Hilfsmittel zur Unterscheidung der Gonokokken vor anderen ähnlichen Organanismen.“

Auch ich kann mich dieser Meinung Platos anschliessen und halte die Neutralrotfärbung in Bezug auf Einfachheit der Technik wie Güte des Resultates für eine der besten Methoden, die dem praktischen Arzte zur Verfügung stehen.

Allerdings muss ich hinzufügen, dass in der verminderten Haltbarkeit der wässigen Lösung ein Nachteil enthalten ist.

Nach drei Monaten wird die Lösung dunkler, bräunlich. Die mit dieser alten Lösung hergestellten Präparate erhalten einen gelbbraunen Ton, färben zwar noch die Gonokokken gut, doch lassen sie keine scharfen Zell- und Kerngrenzen mehr erkennen.

Ich würde daher empfehlen, sich selbst stets frische Neutralrotlösungen zu verfertigen, indem man sich die Farbe in Substanz, abgeteilt in Pulver à 0,5 gr, hält und zum Gebrauch ein Pulver in 100 gr kalten Wasser löst, eventuell filtriert und sofort färbt. Diese Lösung hält sich ein paar Monate lang, lässt sich an einem dunklen Ort vielleicht sogar noch länger gut aufbewahren und liefert dann sehr

zuverlässige und zu diagnostischen Zwecken höchst brauchbare Resultate.

Dass sich das Neutralrot, wie Herz behauptet, zur Färbung spärlicher extracellulärer Gonokokken nicht eignet, konnte ich nicht bestätigen.

Ebenso kann ich, um die Frage der extra-, supra- und intracellulären Lagerung bezüglich der Diagnose des Alters der Gonorrhoe zu berühren, nicht finden, dass hierin ein besonderes diagnostisches Merkmal enthalten sei. Die Lagerung von Gonokokken auf Epithelien, die übrigens sehr schwer von intracellulärer Lagerung zu unterscheiden ist, findet sich bei älterer Gonorrhoe etwas häufiger. Hier finden sich auch weniger, oft fast gar keine Leucocyten.

Sehr zahlreiche oder ausschliesslich Leucocyten finden sich bei akuter Gonorrhoe, wo eine reichliche Eitersekretion vorhanden ist. Die Gonokokken liegen hier intra- oder extracellulär ohne Regel. Die Art der Sekretgewinnung, die bei akuter Gonorrhoe eine höchst einfache ist, hat auf die Lagerung der Kokken keinen Einfluss. Anders verhält es sich mit den Epithelien, die meistens bei älteren Gonorrhoen vorkommen. Die Menge und Grösse derselben hängt natürlich vom Herkunftsorte des Eiters ab wie von der Art der Gewinnung. Bei starkem Pressen und Ausstreifen der Urethra sind natürlich zahlreichere Epithelien im Sekret enthalten.

Um auf die Färbungsmethode zurückzukommen, erlaube ich mir, noch einige Versuche von Einzelfärbungen anzugeben, die ich mit einer Reihe von Teerfarben angestellt habe.

Von roten und gelben Farben benützte ich Sudan III, Congorot, Säurefuchsin, Orange G. meist mit sehr schlechtem Resultate.

Das Congorot in ½ bis 1 % wässeriger Lösung färbt diffus orange und löst die Fixierung des Präparates. Das

Präparat kann nur höchst langsam über der Flamme getrocknet werden, beim Abtrocknen zwischen Fliesspapier bleibt das gefärbte Präparat an demselben hängen und löst sich zum grössten Teil vom Objektträger.

Das schliesslich erhaltene Präparat lässt keine Differenzierung der Zellen, keinerlei Kokkenfärbung erkennen.

Ähnlich verhält sich Säurefuchsin, das zur Schnittfärbung wohl ausgezeichnete Dienste leiset, zu Bakterienfärbung unbrauchbar ist.

Sudan III ist ein zur Fettfärbung sehr geeigneter Farbstoff, zur Bakterienfärbung völlig untauglich. Zellen und Kerne erhalten einen gelben Ton, die Kokken nehmen die Farben gar nicht oder nur so schwach an, dass sie nicht erkennbar sind.

Dasselbe gilt von Orange G. in wässeriger und alkoholischer Lösung (1%), das selbst nach fünf Minuten langer Wirkung nur eine ganz hellgelbe, diffuse, trübe Farbennuance erzeugt.

Anschliessend an die roten Farbstoffe, möchte ich noch das bekannte Bismarckbraun in alkoholischer Lösung und das Vesuvin erkennen. Das erstere färbt frisch in starker Lösung zu stark und diffus braungelb, in verdünnter oder älterer Lösung hellgelb. Es lässt sich höchstens zur Differenzialfärbung benützen, nicht aber zu Einzelfärbungen.

Ebenso liefert das Vesuvin keine deutlichen Bilder.

Ein Übergang von den roten zu den blauen Farbstoffen ist das Hämatoxylin Ehrlich, ein dem Fuchsin nahe stehender roter Farbstoff, der durch alkalischen Alkohol (1% ammoniakalischen Alkohol) gebläut wird.

Die Behandlung des Präparates ist daher für praktische Zwecke ungeeignet, denn sie erfordert eine doppelte Spülung; zuerst in Ammoniakalkohol, dann erst in Wasser. Die entstandene Blaufärbung ist noch dazu ziemlich schwach. Als

Grundfarbe für Schnittpräparate ist das Hämatoxylin wohl sehr gut verwendbar zugleich mit einer roten Farbe für Bakterienfärbung, jedoch entbehrlich. Sie kommt an Stärke ungefähr dem alkoholischen Methylenblau gleich.

Die violetten Farbstoffe Dahlia in ½- bis 1 %iger wässeriger Lösung, Methylviolett und Getianaviolett, färben alle gleich stark; wohl erscheinen Bakterien und vor allem der Gonokokkus sehr stark gefärbt, doch stört die starke, leuchtende Violettfärbung der Kerne und Zellen, die Violettfärbung des Schleims und aller Fasern und die Lilafärbung des Untergrundes so stark, dass an eine deutliche Differenzierung des Präparates, an ein sicheres Diagnostizieren des Gonokokkus aus einer grossen Menge anderer Bakterien nicht zu denken ist.

Vom grünen Farbstoffe benützte ich noch Methylgrün, ebenfalls in 1 %iger Lösung, erzielte aber hiemit nur eine blasse graugrüne Kern- und Zellfärbung ohne brauchbaren Wert. Bakterien blieben ganz unkenntlich.

Etwas besser tingiert Malachitgrün in ebensolcher Lösung, das die Bakterien ziemlich scharf färbt; doch mangelt dem erhaltenen grünen Präparate die Deutlichkeit.

Ausser diesen Einzelfärbungen wurden noch eine Reihe von Doppelfärbungen angegeben, so Malachitgrün oder Methylgrün als Kontrast gegen Methylenblau und Fuchsin. Die Resultate dieser Kontrastfärbungen sind ziemlich unsicher und keineswegs deutlich scharf und schön.

Zu erwähnen ist noch eine von Pick und Jacobsohn angegebene Färbungsmethode, die in sehr kurzer Zeit mit sehr einfacher Technik vorzügliche Präparate liefert.

Pick und Jacobsohn geben eine Farbenmischung an, die besteht aus:

20 ccm aqua destillata,

15 gtt. Ziehl'sches Karbolfuchsin,

8 gtt. konzentrierter alkoholischer Methylenblaulösung nacheinander zugetropft.

Einige Tropfen der Mischung werden auf das gut fixierte Präparat gebracht, 8—10 Sekunden belassen, mit Wasser abgespült und über der Flamme getrocknet.

Bei dieser kurzen Einwirkung erhält man sehr scharfe Bilder. Der Untergrund bleibt fast ungefärbt, das Zellplasma ist rosa, die Kerne blau bis rot gefärbt, die Gonokokken dunkelblaurot bis dunkelblau.

Will man eine dunklere Färbung der Bakterien und eventuelle Bläuung der Kerne erzielen, so kann man die Anzahl der Tropfen Methylenblau auf das Doppelte erhöhen. Eine Änderung der Färbungsdauer ist nicht vorteilhaft, da das Karbolfuchsin auch in dieser schwachen Lösung noch überfärbt und es sonst zu störender Grund- und Schleimfärbung kommt.

Bei dem Farbengemische ist noch zu bemerken, dass noch mehreren Wochen allmählich die Fuchsinfarbe verschwindet, wie man beim Schütteln der Farblösung leicht bemerkt, entsprechend der geringen Haltbarkeit der verdünnten Karbolfuchsinlösung.

Doch lässt sich die Mischung nach Filtration und Zusatz von einigen Tropfen Karbolfuchsin sofort wieder färbekräftig machen. Abgesehen von diesem Nachteil, liefert dieses einfache Verfahren sehr gute klare Bilder, wie sie in ebenso kurzer Zeit mit so geringen technischen Anforderungen von keiner Methode von Doppelfärbung sowohl, wie auch Einzelfärbung erzielt werden.

Ein ähnliches Verfahren, bei dem anstatt Karbolfuchsin gewöhnliche wässerige Fuchsinlösung verwendet wurde, führte zu einem bedeutend schwächeren Resultate. Die Zersetzung der Farbmischung ist überdies eine sehr rasche, so dass eine brauchbare Methode nicht entsteht. Anstatt der konzentriert

alkoholischen Methylenblaulösung jedoch kann man eine wässerige 1%ige Lösung benützen mit demselben Resultate, aber ohne die Haltbarkeit der Farblösung zu verbessern.

Nach alledem ergibt sich, wie auch aus den beigegebenen Tabellen ersichtlich ist, dass sowohl von den einzelnen wie von den Doppelfärbungen mehrere Methoden die Voraussetzung erfüllten: ein Färbungsverfahren darzustellen, das dem praktischen, vielbeschäftigten Arzte erlaubt, in kürzester Zeit ohne schwierige Technik mit geringen Mitteln neben dem klinischen Bilde in zweifelhaften Fällen mit ziemlicher Sicherheit die mikroskopische Ergänzungsdiagnose zu stellen.

Von Einzelfärbungen ist es das Löffler'sche Methylenblau und noch mehr die $^1/_{10}$%ige wässerige Fuchsinlösung und vor allem die 1%ige wässerige Neutralrotlösung (Grübler oder Ehrlich), die namentlich in frisch gefertigter Lösung typische, sehr klare und deutliche Bilder in weniger als eine Minute liefern. Die hier erhaltenen Bilder geben auch bei nur geringer Übung wohl zu keinem Irrtum in der bakteriologischen Diagnose neben dem klinischen Bilde Anlass.

Für die Praxis unbrauchbar sind vor allem alle gelben und grünen Farben, welche wegen zu geringer Farbentiefe keine scharf abgegrenzten Bilder liefern. Ferner sind die violetten Farben (Methylviolett, Dahlia, Gentianaviolett), welche im Gegensatz zu den vorhergehenden eine so starke Grundfärbung erzeugen, dass die erhaltenen Bilder völlig undeutlich werden, ebenfalls nicht verwendbar. Denselben Fehler haben die höher konzentrierten Fuchsine und das reine Karbolfuchsin. Von blauen Farben ist nur das Löffler'sche Methylenblau verwertbar, alle anderen Modifikationen des Methylenblaus sind zu schwach.

Sollte es aber im Wunsche des Einzelnen liegen, sich durch Kontrastfärbungen scharfe und deutlich begrenzte

Bilder zu beschaffen, so kann hier die Methylenblau-Eosinmethode (Neisser II.) oder die noch einfachere Methode nach Pick und Jacobsohn der Fuchsin-Methylenblaufärbung bestens empfohlen werden. Es mögen zwar noch manche Methoden in den Händen von Fachärzten oder Bakteriologen, wie die vielgerühmte Gram'sche Methode, bei genauen Untersuchungen im Laboratorium vorzügliches leisten, für praktische Zwecke aber entsprechen die obigen Methoden durch Einfachheit der Ausführung, Exaktheit des Resultates am besten. Alle anderen Doppelfärbungen, wie die Methylenblau-Saffranin oder Eosinmethode nach Hasse oder Schütz, sind bei sehr komplizierter Technik zu unsicher in ihrem Resultate. Grünrot oder rotviolette Farben sind, weil ihre Kontrastwirkung gegenseitig eine zu wenig scharfe ist und sie nur undeutliche, verschwommene oder in den Farben ineinander gehende Präparate liefern, zu bakteriologischen Untersuchungen und speziell zur Darstellung von Gonokokken in stark gemischt-bakterienhaltigen chronischen Gonorrhoefällen völlig unbrauchbar.

Zum Schlusse drängt es mich, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. M. Stumpf, für die Überlassung der Arbeit und die mir zu teil gewordene Unterstützung in der Anfertigung derselben meinen verbindlichsten Dank auszusprechen. Ebenso danke ich den Herren Assistenzärzten Dr. Hörmann, Dr. S. Assimakopulos und Dr. Wallerstein für ihre liebenswürdige Unterstützung bei der Sammlung und Bearbeitung des grossen, mir zur Verfügung gestellten Materials.

Litteratur.

1. Abel: Taschenbuch für den bakteriologischen Praktikanten.
2. Lehman und Neumann: Atlas und Grundriss der Bakteriologie.
3. Fraenkel: Lehrbuch der Bakteriologie.
4. Flügge: Die Mikroorganismen, Band II.
5. Ludwig Heim: Lehrbuch der Bakteriologie.

Dissertationen:

6. Karl Hasse: Der Gonokokkus Neisser, sein Vorkommen bei Urethritis und Bartholinitis (Strassburg 1893).
7. Max Weinrich: Die bakteriologischen Untersuchungsmethoden bei chronischer Gonorrhoe des Mannes (Berlin 1892).
8. Joh. Wolf. Reichel: Über Cervikalgonorrhoe (Strassburg 1897).

Monographie:

9. Ernst Bumm: Der Mikroorganismus der gonorrhöischen Schleimhauterkrankungen: Gonokokkus Neisser (Wiesbaden 1895).

Zeitschriften:

10. Berliner klinische Wochenschrift 1899, Nr. 49. Plato: Über Gonokokkenfärbung.
11. Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten 1900, Band XXVIII. Homberger: Über Gonokokkenfärbung.
12. Therapeutische Monatsschrift. Referat von Steinschneider.
13. Zentralblatt für die medizinischen Wissenschaften 1899. Neisser: Über eine der Gonorrhoe eigentümliche Kokkenform.

14. Münchener medizinische Wochenschrift 1889, Band XXXVI. Schütz: Ein Beitrag zum Nachweis der Gonokokken.
15. Schmidts Jahrbücher der gesamten Medizin 1886, Band 209. Becker: Bakteriologie.
16. Idem 1898, Band 259.
17. Virchow und Hirsch: Jahresbericht über die Leistungen und Fortschritte in der gesamten Medizin. XXXV. Jahrgang 1901. II. 587. Zeissl und Spiegler.
18. Idem XXXIV. Jahrgang 1889. II. 582. Uhma.
19. Idem XXXII. Jahrgang 1897. II. 587. Schaeffer.
20. Archiv für Dermatologie und Syphilis 1900, Band 52. Alfred Lanz: Über die Lagerung der Gonokokken im Trippersekret.
21. Idem 1901, Band 55. Leven: } Wann können wir die Go-
22. Idem 1901, Band 56. Scholtz: } norrhoe als geheilt ansehen.
23. Idem 1899, Band 50. Uhma: Schnellfärbung der Neisserschen Diplokokken.
24. Monatshefte für praktische Dermatologie 1886, Band V. 449. Bockhardt: Beitrag zur Kenntnis der Gonokokken.
25. Prager medizinische Wochenschrift 1900. Herz: Über Gonokokkenfärbung mit Neutralrot.
26. Deutsche medizinische Wochenschrift. Lomer: Über die Bedeutung und Diagnose der weiblichen Gonorrhoe.
27. Berliner klinische Wochenschrift, Band XXXIII, 811. Pick und Jacobsohn: Über ein einfaches Verfahren zur Doppelfärbung von Gonokokken.

Tabelle I.

Einzelfärbungen.

Verfahren	Resultat	Praktische Verwendbarkeit
1. Das fixierte Präparat mit Löfflers Methylenblau beträufelt 10 Sek. bis 1 Min. belassen, mit Wasser gespült und zwischen Fliesspapier oder über der Flamme getrocknet	Plasma, Schleim, Untergrund hellblau; Kerne blau; sämtliche Bakterien dunkelblau. Keine scharfe Begrenzung gegenüber dem Untergrund	Gut brauchbar bei Präparaten, die wenig Schleim enthalten
2. Karbolmethylenblau oder alkoholisch konzentrierte Methylenlösung; eine Minute; mit Wasser abgespült	Ziemlich diffuse, trübe blaugraue Untergrundfärbung. Kerne hellblau, undeutlich. Bakterien blau, undeutlich	Nicht brauchbar
3. Methylviolett	Diffuse, stark glänzende Violettfärbung. Kerne und Bakterien dunkelviolett; ermüdet das Auge sehr. Keine deutliche Abgrenzung	Nicht brauchbar
4. Gentianaviolett	idem	Nicht brauchbar
5a. Dahlia. 1%ige wässerige Lösung. 10 Sekunden bis 1 Minute	Stark glänzender, violetter Untergrund. Dunkelviolette Kerne und Bakterien. Keine Abgrenzung des Zellplasmas	Nicht gut brauchbar
5b. Dahlia. ½%ige wässerige Lösung. 10 Sekunden bis 1 Minute	Etwas heller wie vorher, aber ohne scharfe Abgrenzung der Zellen; Bakterien scharf	Nicht gut brauchbar

Verfahren	Resultat	Praktische Verwendbarkeit
6. Fuchsin:		
a) Konzentr. wässerige Lösung. 5 bis 10 Sekunden bis 1 Minute	Diffuse blaurote Färbung ohne Abgrenzung der Zellen; dunkelrote Kerne und Bakterien	Wegen Überfärbung nicht brauchbar
b) 1%ige wässerige Lösung	Hellrosa Untergrund, rotes Plasma und Schleim, dunkelrote Kerne	
c) 1‰ige wässerige Lösung. ½ bis 1 Minute	Untergrund fast hell; Plasma hellrosa, Kerne rot, sehr scharf begrenzt, Bakterien dunkelrot, leuchtendscharf	Sehr gut
7. Fuchsin. 1%ige alkoholische Lösung	Wie 6b, nur noch verschwommener	Unbrauchbar
8. Ziehl'sches Karbol-Fuchsin:		
a) unverdünnt 10 Sekunden bis 1 Minute	Stark überfärbt. Diffuse Blaurotfärbung ohne deutliche Differenzierung	Unbrauchbar
b) verdünnt 1 : 10 Wasser	Ähnlich wie ‰ Fuchsin, jedoch weniger deutlich	Besser
9. 1%ige wässerige Eosinlösung 10 Sekunden bis 1 Minute	Diffuse leuchtende Rosafärbung ohne jede Differenzierung	Unbrauchbar
10a. 1%ige alkoholische Neutralrotlösung: ½ bis 3 Minuten	Schwache undeutliche Rosafärbung ohne Abhebung der einzelnen Bestandteile des Sekretes	Nicht gut brauchbar
10b. 1%ige wässerige Neutralrotlösung: 1 Minute	Sehr scharf begrenztes gelblichrotes Zellplasma, Untergrund ungefärbt, Kerne rot mit deutlicher Struktur. Bakterien dunkelrot, Gonokokken leuchten rot, sehr scharf abgegrenzt	Sehr gut
11. Saffranin 1%ige alkoholische Lösung	Dieselbe Wirkung wie 1%ige Fuchsinlösung	Brauchbar, doch Fuchsin besser
12. Congorot 1%ige wässerige Lösung 1 Minute	Undeutliche Gelbfärbung ohne jede Bakteriendifferenzierung	Unbrauchbar

Verfahren	Resultat	Praktische Verwendbarkeit
13. Sudan III	Undeutliche Gelbfärbung ohne jede Bakteriendifferenzierung	Unbrauchbar
14. Orange G. 1%ige wässerige Lösung	idem	Unbrauchbar
15. Bismarckbraun	idem	Unbrauchbar
16. Vesuvin	idem	Unbrauchbar
17. Methylgrün 1%ige wässerige Lösung. 1 Minute	Hellgraugrünes Plasma. Blaugrüne helle, unscharfe Kerne und ebensolche Bakterien	Unbrauchbar
18. Malachitgrün 1%ige wässerige Lösung. 1 Minute	idem	Unbrauchbar

Tabelle II.

Doppelfärbungen.

A.

Verfahren	Resultat	Praktische Verwendbarkeit
1. Methylenblau-Eosin:		
a) Löfflers Methylenblau, auf dem Objektträger erwärmen, abspülen, Eosin	Sehr gut brauchbares Resultat, doch ist bei der Behandlung genau zu verfahren, damit nicht die eine oder die andere Farbe überfärbt. Zellkerne blau, Kokken schwarzblau, Plasma rosa; scharf begrenzt, wenn wenig Schleim	Sehr gut brauchbar
b) Konzentrierte alkoholische Eosinlösung erwärmen, dann absaugen, mit alkohol. Methylenblaulösung nachfärben	Schlecht	Unbrauchbar
2. Methode Hasse:		
a) 5%iges Karbolmethylenblau entwässern, mit Essigsäure entfärben, mit Eosin oder Saffranin nachfärben	Gibt sehr unregelmässiges Resultat, das von dem Schleimgehalt der Präpate, dem Alter der Farbe und Stärke und Dauer der Essigsäure-Entfärbung sehr abhängig ist und selten gelingt	Unbrauchbar
b) Schütz: 1%ige alkoholische Methylenblaulösung. Essigsäure entfärben, mit Saffranin nachfärben		
3. Methyl- oder Malachitgrün-Fuchsin	Gibt keine Differenzierung, sondern nur diffuse violette Farbe	Unbrauchbar

Verfahren	Resultat	Praktische Verwendbarkeit
4. Methylenviolett oder Dahlia-Eosin	Gibt keine brauchbare Differenzierung, sondern nur diffuse violette Farbe	Unbrauchbar
5. Methylenblau-Karbol-Fuchsin. Die Farblösung besteht nach Pick und Jacobsohn aus: 20 ccm Aqua dest. 8 gtt. alkohol. konz. Methylenblaulösung. 15 gtt. Karbol-Fuchsin. Ziehl. Mit dieser Mischung 6 bis 8 bis 10 Sekunden färben, mit Wasser abspülen und über der Flamme trocknen	Plasma, Schleim hellrosa, Kerne dunkelrot. Bakterien rot, bei vermehrtem Zusatz von Methylenblau (bis zu 16 bis 20 Tropfen), dunkelblau ohne Änderung der Färbezeit, die nie mehr als 10 Sekunden betragen darf! Die Färbung ist scharf und exakt	Sehr gut brauchbar

B. Gram'sches Verfahren.

1. 25 bis 30 Minuten in wässeriger Anilinwassergentianaviolett-Lösung. Mit Wasser abspülen 5 Minuten. Jod-Jodkaliumlösung, dann Alkoh. abs. mit Wasserspülen, nachfärben mit Methylenblau oder Karbolfuchsin	Lässt aus der Entfärbung und Wiederfärbung die Gonokokken nicht mit Sicherheit erkennen. Eine Diagnose der violettgebliebenen Bakterien oder der mit der Kontrastfarbe gefärbten Kokken ist nicht möglich. Dabei ist das Resultat ganz gleich, ob mit Methylenblau oder Karbolfuchsin oder Fuchsin, Saffranin, Bismarkbraun etc. nachgefärbt wird	Praktisch nicht verwendbar
2. Günthers Modifikation	idem	Praktisch nicht verwendbar

Lebenslauf.

Geboren am 13. Oktober 1877 zu München, katholischer Konfession, trat ich nach beendeter Elementarschulzeit und Absolvierung des Kgl. Theresiengymnasiums in München im Jahre 1897 in die Kgl. Ludwigsmaximiliansuniversität hier ein. Dort hörte ich die vorgeschriebenen Kollegien und war mir Gelegenheit geboten, schon frühzeitig in die praktische Thätigkeit hinauszutreten. Nach Ablauf von zehn Semestern bestand ich im Juni 1902 die staatliche Approbationsprüfung.